

Código O-033

CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE PROTEOLÍTICA DOS PRODUTOS DE EXCREÇÃO/SECREÇÃO DOS ESTÁGIOS LARVARES DE COCHLIOMYIA HOMINIVORAX

CHARACTERIZATION OF PROTEOLITIC ACTIVITY OF COCHLIOMYIA HOMINIVORAX LARVAE EXCRETORY/SECRETORY PRODUCTS

MÁRCIA CRISTINA DE SENA OLIVEIRA (EMBRAPA PECUÁRIA SUDESTE); SEMÍRAMIS GUIMARÃES (UNESP/BOTUCATU); TERESA CRISTINA GOULART OLIVEIRA-SEQUEIRA (UNESP/BOTUCATU); ÉRICA BOROATO DAVID (UNESP/BOTUCATU); ANA CAROLINA DE SOUZA CHAGAS (EMBRAPA PECUÁRIA SUDESTE); LUCIANA GATTO BRITO (EMBRAPA RONDÔNIA); RODRIGO GIGLIOTI (ALUNO UNESP/JABOTICABAL); JENIFER FERREZINI (ALUNA UNICEP); MARIBEL ELIZABETH FUNES HUACCA (ALUNA IQ-USP SÃO CARLOS)

As larvas da mosca *Cochliomyia hominivorax* causam graves miíases em bovinos criados nas Américas Central e do Sul. As fêmeas colocam seus ovos nos bordos de ferimentos recentes, na pele dos animais, e as larvas se estabelecem graças à secreção/excreção de enzimas proteolíticas. Larvas de *C. hominivorax* foram criadas no laboratório de sanidade animal da Embrapa Pecuária Sudeste. Após serem lavadas sucessivamente em solução salina, solução salina adicionada de VancomicinaR e água destilada estéril, grupos de 50 larvas foram colocados em placas de Petri contendo 5mL de meio RPMI. Após incubação por 12 horas (L1 e L2) ou 24 horas (L3) a 37° C, as larvas foram descartadas e o meio centrifugado. O sobrenadante obtido foi distribuído em alíquotas de 100 µL e armazenado a -80°C. A atividade proteolítica foi investigada aplicando-se as amostras desses produtos nativos em gel de poliacrilamida na presença de dodecil sulfato de sódio em sistema de gradiente 5-12,5%, copolimerizado com gelatina ou com colágeno a 0,2%. A natureza da proteólise foi avaliada nos mesmos géis, nos quais as amostras foram aplicadas após incubação prévia com cada um dos seguintes inibidores de proteases: PMSF, TLCK, TPCK, E-64, DCI, Elastatinal e EDTA. A análise da atividade proteolítica dos extratos sobre colágeno e gelatina revelou a presença de perfis caracterizados por amplas áreas de hidrólise, na faixa que se estende desde a região de massa molecular aparente > 170 kDa até 29 kDa; por uma zona de hidrólise intensa na região de 170 a 102 kDa e várias bandas com massas aparentes entre 45 e 74 kDa. A inibição da atividade proteolítica dos extratos de L1 foi obtida principalmente pela incubação com PMSF e DCI; de L2, com DCI e L3, com PMSF. Esse tipo de inibição sugere a predominância de enzimas do grupo das serina proteases.

Agradecimento Projeto financiado pela Embrapa